

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. August 2005 (18.08.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/074350 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C12N 9/12**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/050479

(22) Internationales Anmeldedatum:
4. Februar 2005 (04.02.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102004005885.7 5. Februar 2004 (05.02.2004) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **RHEINISCHE FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT BONN [DE/DE]**; Regina-Pacis-Weg 3, 53113 Bonn (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **MARX, Andreas** [DE/DE]; Maximilianstr. 34, 53111 Bonn (DE). **SUMMERER, Daniel** [DE/DE]; Luisenstr. 129, 53129 Bonn (DE). **RUDINGER, Nicolaus, Zackes** [DE/DE]; Beethovenstr. 1, 53115 Bonn (DE).

(74) Anwalt: **HELBING, Jörg**; Von Kreisler Selting Werner, Postfach 102241, 50462 Köln (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL,

AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung in elektronischer Form getrennt veröffentlicht; auf Antrag vom Internationalen Büro erhältlich

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 24. November 2005

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 2005/074350 A3

(54) Title: MUTATED DNA POLYMERASES WITH INCREASED MISPAIRING DISCRIMINATION

(54) Bezeichnung: MUTIERTE DNA-POLYMERASEN MIT ERHÖHTER FEHLPAARUNGS-DISKRIMINIERUNG

(57) Abstract: The invention relates to DNA polymerases with a special mutation, exhibiting increased mispairing discrimination. The invention also relates to the production and use thereof. The thermostable DNA polymerases with said mutation are particularly suitable for diagnostic and molecular biological methods, e.g. allele-specific PCR.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft DNA-Polymerasen mit einer speziellen Mutation, die eine erhöhte Fehlpaarungs-Diskriminierung aufweisen, deren Herstellung und Verwendung. Die thermostabilen DNA-Polymerasen mit dieser Mutation sind besonders für diagnostische und molekularbiologische Verfahren, z.B. allelspezifische PCR geeignet.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/050479

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12N9/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MINNICK T ET AL.: "side chains that influence fidelity at the polymerase active site of Escherichia coli DNA polymerase I (klenow fragment)" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 275, no. 5, 29 January 1999 (1999-01-29), pages 3067-3075, XP002341285 abstract figure 1 table 1 table 3 page 3072 ----- -/-	1-4,6-15

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 25 August 2005	Date of mailing of the international search report 02/09/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Keller, Y

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/050479

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PAVLOV A. ET AL: "Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 22, no. 5, May 2004 (2004-05), pages 253-259, XP004504365 -----	
A	PATEL P. ET AL.: "Prokaryotic DNA polymerase I: evolution, structure, and "base flipping" mechanism for nucleotide selection" J. MOL. BIOL., vol. 308, 2001, pages 823-837, XP004466165 -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/050479

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N9/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>MINNICK T ET AL.: "side chains that influence fidelity at the polymerase active site of Escherichia coli DNA polymerase I (klenow fragment)" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 275, Nr. 5, 29. Januar 1999 (1999-01-29), Seiten 3067-3075, XP002341285</p> <p>Zusammenfassung Abbildung 1 Tabelle 1 Tabelle 3 Seite 3072</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-4,6-15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

25. August 2005

02/09/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Keller, Y

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/050479

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	PAVLOV A. ET AL: "Recent developments in the optimization of thermostable DNA polymerases for efficient applications" TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Bd. 22, Nr. 5, Mai 2004 (2004-05), Seiten 253-259, XP004504365 -----	
A	PATEL P. ET AL.: "Prokaryotic DNA polymerase I: evolution, structure, and "base flipping" mechanism for nucleotide selection" J. MOL. BIOL., Bd. 308, 2001, Seiten 823-837, XP004466165 -----	